

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.



(19) RU (11) 94033342 (13) A1
 (51) 6 A61K 9/50, C12/N 11/04

RUSSIAN FEDERATION COMMITTEE
 FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) SPECIFICATION TO PATENT APPLICATION

(21) 94033342/14

(22) 10.06.94

(31) 9212553

(32) 14.10.92

(33) FR

(43) 27.03.96 Bull. No. 9

(86) PCT/EP 93/02825 (13.10.93)

(72) Jiri Oniger (FR), Eric Muscat (FR)

(71) Ospal Industrie (FR), Institut National de la Sante et
 de la Recherche Medicale (I.N.S.E.R.M.) (FR)

(74) Matveeva N.A.

(54) **IMPLANTABLE CAPSULE**

(57) There is proposed an implantable capsule, comprising an outer envelope constituted by an acrylonitrile hydrogel and sodium methallyl sulfonate an inner core comprising a substance to be encapsulated. The core may be formed by islets of Langerhans, pancreatic beta-cells or hepatocytes.

CLAIMS

1. An implantable capsule, characterized in that it comprises:

- an outer envelope constituted by an acrylonitrile hydrogel and sodium methallyl sulfonate,
- an inner core formed by a substance to be encapsulated.

2. An implantable capsule according to claim 1, characterized in that it has a spherical shape with a diameter substantially within a range of 800 μm to 900 μm and in that the envelope has a constant thickness substantially equal to 100 μm .

3. An implantable capsule according to one of claims 1 or 2, characterized in that the core comprises a substance selected from islets of Langerhans or pancreatic β -cells.

4. An implantable capsule according to claim 3, characterized in that the envelope of the capsule is permeable for insulin and for nutrient substances necessary for the substance to be encapsulated.

5. An implantable capsule according to one of claims 1 or 2, characterized in that the core comprises hepatocytes.

6. An implantable capsule according to one of the preceding claims, characterized in that the envelope contains at least 80% of water.

Transplantation of Islet Cells in the Therapy of Diabetes Mellitus

V.I. Shumakov and N.N. Skaletskii

*Institute of Transplantology and Artificial Organs,
Ministry of Health of Russia, Moscow*

The main results of using transplantation methods in treating insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) are briefly analyzed. The results of transplantations of islet cells, carried out at the Institute of Transplantology and Artificial Organs are described (about 1100 operations, more than 800 of them being xenografts). The main results of allogenic and xenogenic transplantations are: stabilizing the course of the IDDM and suspending the progress of secondary diabetic complications.

Keywords: *culture of embryonal islet cells; allogenic and xenogenic transplantations.*

(Transplantation of Fetal Tissues and Cells. Collection of Scientific Papers, Moscow, 1998, p. 109)

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
CERTIFICATE OF CORRECTION

PATENT NO. : Reissue 32,969
DATED : June 27, 1989
INVENTOR(S) : Seymour F. Trager, et al.

4540568

A61K 31/78

It is certified that error appears in the above-identified patent and that said Letters Patent is hereby corrected as shown below:

In the Titles on the front page and at column 1, change "VISOELASTIC" to --VISCOELASTIC--.

At column 1, line 33, change "instance" to --instances--.

At column 2, line 3, change "...about 1 to 6..." to --...about 1 to about 6...--.

Signed and Sealed this
Twenty-fourth Day of April, 1990

Attest:

HARRY F. MANBECK, JR.

Attesting Officer

Commissioner of Patents and Trademarks



(19) RU (11) (21) 94033342 (13) A1

(51) 6 A 61 K 9/50, C 12 N 11/04

Комитет Российской Федерации
по патентам и товарным знакам

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЗАЯВКЕ

1

(21) 94033342/14 (22) 10.06.94
(31) 9212553 (32) 14.10.92 (33) FR
(43) 27.03.96 Бюл. № 9
(86) PCT/EP 93/02825 (13.10.93)
(72) Жири Ониже(FR), Эрик Мюска(FR)
(71) Оспаль Эндюстри (FR), Энститю Нась-
ональ де ля Санте э де ля Решерш
Медикаль (И.Н.С.Е.Р.М.) (FR)
(74) Матвеева Н.А.

2

(54) ИМПЛАНТИРУЕМАЯ КАПСУЛА
(57) Предлагается имплантируемая капсула,
включающая внешнюю оболочку, образован-
ную гидрогелем акрилонитрила и метилли-
сульфонатом натрия, и внутреннее ядро,
включающее капсулируемое вещество. Ядро
может быть образовано островками Лангер-
ганса, панкреатическими бета-клетками или
гепатоцитами.

RU

94033342

A1

капсула
и ядро
капсулируемое вещество
Лангерганса
бета-клетками
гепатоцитами

A1

94033342

RU

94033342/14

№ 2420—212053
Конвенционная заявка
на патент с приоритетом
от 14.10.92.
Инофирмы 1—Оспаль Эндюстри, Франция
II—Эститю Насьональ
де ля Санте э де ля Решерш
Медикаль /И.Н.С.Е.Р.М./, Франция
Заявка по договору
о патентной кооперации
РСТ/ЕР 93/02825 от 13.10.93. II Глава

ИМПЛАНТИРУЕМАЯ КАПСУЛА

Область техники

Данное изобретение относится к технической области капсулирования вещества. Более точно, предметом данного изобретения является капсула на основе вещества, заключенно-

го в капсулу при помощи избирательно /селективно/ проницаемой мембраны.

Предшествующий уровень техники

В течение нескольких лет в области капсулирования были сделаны заметные достижения. В самом деле, капсулирование находит применение в производстве лекарств замедленного действия, для которых можно задать время, после которого активное начало будет выделяться, а также кинетику его выделения при помощи подбора вида и размера капсулы.

Способы капсулирования находят особое применение в области трансплантации клеток или групп клеток, таких как островки Лангерганса. Имплантацию островков Лангерганса предпринимают больным диабетом для временного устранения недостаточности выработки у них в организме инсулина.

В тех случаях, когда островки имплантируются человеку без предварительного капсулирования, риски отторжения являются высокими, несмотря на проведение курса подавления иммунитета.

Следовательно, предпочтительно капсулировать островки перед имплантацией, что дает возможность образованию вокруг островков оболочки, составляющей антигенный барьер; могут использоваться островки различного происхождения, особенно, островки свиньи.

Используемая капсула должна иметь оболочку, не проницаемую для элементов иммунной системы, но проницаемую

для питательных веществ, необходимых для питания островков, а также для инсулина, вырабатываемого в соответствии с концентрацией глюкозы в крови. Более того, она должна быть биосовместимой и не вызывать неблагоприятных реакций в тканях, составляющих участок имплантации.

Для получения капсул биологического материала разработаны различные способы.

Например, в статье авторов Dupny, Gin, Baquey и Ducassou под названием "In situ polimerization of a microcapsulating medium round living cells", опубликованной в 1988 году в журнале "Jornal of Biomedical Materials Research". Vol. 22 pp. 1061—1070 описывается способ микрокапсулирования живых клеток.

В соответствии с этим способом, клетки, подлежащие капсулированию, помещают в раствор агарозы и экструдируют /выдавливают/ в парафиновое масло.

Эта экструзия осуществляется при помощи шприцевой иглы, внутри которой клетки находятся в виде суспензии в арагозе. Эта игла помещена внутри капиллярной трубки, чуть большего диаметра, в которую закачивается парафиновое масло. Парафиновое масло подается в большем количестве, чем арагоза.

В конце капиллярной трубки, шарики вводятся в ванночку парафинового масла, охлажденную до 4°C для быстрого загустевания /гелеобразования/ шариков.

Шарики, полученные таким образом, в дальнейшем подвергаются операции вторичного покрытия оболочкой посредст-

вом раствора, который способен полимеризоваться. Шарики подсасываются в полиэтиленовую капиллярную трубку.

К этой трубке присоединена Т-образная часть для введения в нее раствора мономеров /30% акриламида 1,5% бисакриламида/, к которому добавляются сенсибилизатор и катализатор.

Затем трубку пропускают через камеру облучения, внутри которой помещена ртутная лампа высокого давления, инициирующая полимеризацию. Полученные шарики далее собираются в емкости, содержащей консервирующую среду.

Такая технология тем не менее имеет много недостатков и особенно то, что она является прерывающейся и состоящей из двух различных стадий.

Более того, реакция полимеризации вносит высокий риск гибели капсулированных клеток и выполняема только в некоторых полимерных растворах.

Раскрытие изобретения

В основу данного изобретения положена задача создания имплантируемой капсулы, внутри которой капсулированное вещество сохраняет свою жизнеспособность и функциональную способность, а также имплантируемой капсулы, которая является биосовместимой и не вызывает негативной реакции в тканях, образующих участок имплантации.

Поставленная задача решается тем, что имплантируемая капсула, согласно изобретению, включает:

- внешнюю оболочку, образованную гидрогелем акрилонитрила и металилсульфонатом натрия,
- внутреннее ядро, включающее капсулированное вещество.

В дальнейшем изобретение поясняется конкретным примером его выполнения, со ссылкой на сопровождающие чертежи, на которых:

Фиг. 1 представляет собой схему устройства данного изобретения в общем виде.

Фиг. 2 представляет собой увеличенное изображение части фиг. 1.

Фиг. 3 изображает первую стадию способа согласно данному изобретению.

Фиг. 4 — вторую стадию способа согласно данному изобретению.

Фиг. 5 — третью стадию способа согласно данному изобретению.

Фиг. 6 — результаты опыта, полученные с продуктами данного изобретения.

Вариант наилучшего осуществления изобретения

Устройство, представленное на Фиг. 1, включает капиллярную трубку 1 для подачи вещества, которое подлежит капсулированию и находится в емкости 2.

Эта трубка 1 имеет точку пересечения 3 с трубкой 4, проводящей несущую жидкость, исходящую из емкости 5. Точка пересечения 3, которая показана здесь как простое соединение

2х трубок, фактически состоит из устройства для аксиальной экструзии вещества, подлежащего капсулированию, находящегося в трубке 1, и для кольцевой соэкструзии несущей жидкости, находящейся в трубке 4. Трубка 1 последовательно входит в центральную часть сопла 6 по существу конической формы, снабжаемого через трубку 7 полимерным раствором из емкости 8. Коническое сопло 6 оканчивается коротким сужающимся каналом 9, который в свою очередь заканчивается охлаждающей трубкой 10, противоположный относительно канала конец которой находится на уровне поверхности жидкости 6 находящейся в емкости 11.

Двойная оболочка 12, соединенная с охлаждающим устройством 13, окружает трубку 10, давая возможность сохранять пониженную температуру ее содержимого.

Содержимое емкостей 2, 5 и 8 подается в трубки 1, 4 и 7 соответственно посредством давления, создаваемого сжатым воздухом, подаваемым по линиям 14, 15 и 16 соответственно. Устройство 17 позволяет контролировать подачу воздуха в каждую емкость, что делает возможным осуществления контроля их давления, и следовательно, скорости потока внутри трубок 1, 4 и 7.

Как показано на фиг. 2, капиллярная трубка 1 имеет на конце, лежащем в коническом сопле 6, заостренную стенку 18. Стенка 18 расположена на расстоянии d от конического сопла и образует с ним угол α . Расстояние d может изменяться внутри сопла 6, благодаря подвижности капиллярной трубки 1, что дает возможность изменять количество экструдированного пол-

имерного раствора, и следовательно, толщину образуемой капсулы.

Комплект трубок 1, 4, 7, 9 и 10 выполнен из лиофобного материала, который является инертным относительно различных жидкостей, циркулирующих в них.

Это, например, политетрафтор — этилен /ПТФЭ/, преимуществом которого является его прозрачность.

Капсулируемое вещество может быть различных видов. Например, можно капсулировать вещество с биологической активностью /такое как лекарство/, присутствующее в емкости 2 в форме раствора /например, инсулин/ или в форме суспензии; можно капсулировать клетки или группы клеток в виде суспензии в среде, пригодной для выживания клеток: бактерии, RIN—клетки, гепатоциты, панкреатические β клетки, островки Лангерганса, эритроциты, α 929—клетки /фибробласты мыши и т.д./.

Полимерный раствор, используемый для капсулирования, включает:

- сополимер акрилонитрила и ненасыщенный сомономер олефинового ряда, включающий анионные группы,

- подходящий растворитель такой как, особенно N,N'—диметилформамид /ДМФА/, диметилсульфоксид /ДМСО/, N—метилпирролидон /NMP/ или пропиленкарбонат /ПК/,

- осадитель такой, как водный солевой раствор.

Относительные пропорции каждого из элементов, содержащихся в растворе, могут изменяться в соответствии с харак-

теристиками предполагаемой оболочки капсулы, особенно, когда речь идет о ее проницаемости.

Несущая жидкость, находящаяся в емкости 5, используется для сегментирования потока вещества, подлежащего капсулированию.

Для этого выбирают осаждающую гидрофобную жидкость, не связывающуюся с полимером или сополимером, присутствующим в полимерном растворе; эта жидкость не должна воздействовать на вещество, которое капсулируется; она подбирается таким образом, чтобы поверхности ее раздела с веществом, которое подлежит капсулированию, с одной стороны, и полимерным раствором, с другой стороны, имели свойства смачиваемости, приспособленные к капсулированию.

Примером несущей жидкости, пригодной для решения задачи данного изобретения, особенно в случае, когда полимерный раствор включает акрилонитрильный сополимер, является жидкость, образованная частично гидроксилированным маслом полидиметилсилоксана, причем степень гидроксилирования определяется в соответствии с необходимой степенью гидрофильности: большей степени гидрофильности будет соответствовать больший размер сегментов вещества, подлежащего капсулированию.

Вязкость несущей жидкости должна быть адаптирована к требуемой скорости потока, а также к требуемому размеру сегментов вещества, подлежащего капсулированию.

В самом деле, при равенстве всех других показателей, с возрастанием вязкости несущей жидкости возрастает размер

сегментов вещества, подлежащего капсулированию, ввиду возрастания силы, необходимой для разрезания потока.

Жидкость, находящаяся в емкости II, предназначена для замены растворителя, содержащегося в полимерном растворе, на осадитель.

Эта операция делает возможным получение вокруг вещества, подлежащего капсулированию, оболочки в состоянии не-термообратимого геля. Выбор используемого осадителя зависит от природы экструдируемого полимерного раствора.

Предпочтительной является возможность использования раствора, включающего две жидкости, чей потенциал осаждения полимера или сополимера, присутствующих в полимерном растворе, различен.

Так например, раствор, находящийся в емкости 11, может быть образован нижней фазой, состоящей из сильного осадителя, и верхней фазой, состоящей из слабого осадителя.

Термин сильный осадитель обозначает осадитель, который при использовании в качестве коагулянта очень быстро высаживает раствор, с которым он вступает в контакт. Слабый осадитель, напротив, будет высаживать его очень медленно.

Использование верхней фазы, образованной слабым осадителем, дает возможность капсуле проникать в сильный осадитель без деформации.

В том случае, когда сильный осадитель используется в водной растворе, замещение растворителя в полимерном растворе водой приводит к образованию гидрогеля, который явля-

ется благоприятным для получения хороших свойств биосовместимости.

Работа устройства описывается следующим образом.

Несущая жидкость нагнетается для циркулирования из емкости 5 посредством давления, создаваемого воздухом, поступающим по линии 15. Давление воздуха регулируется устройством 17 для получения подходящей скорости потока.

Для ускорения течения несущей жидкости в линии 1 в направлении сопла 6 и для предотвращения поступления ее в резервуар 2 можно перекрывать трубку 1 в положении между точкой пересечения 3 и резервуаром 2 или создавать в этой части трубки повышенное давление.

Когда несущая жидкость достигает емкости 11, устройство 17 начинает подавать в емкость 8 сжатый воздух для ввода потока полимерного раствора в сопло 6 через трубку 7. Расстояние d затем регулируется вертикальным перемещением трубки 1 в сопле 6 таким образом, чтобы оно соответствовало толщине оболочки капсулы.

Впоследствии устройство 17 вызывает движение вещества, подлежащего капсулированию, в трубку 1. Давление воздуха в емкостях 2, 5 и 8 регулируется в соответствии со скоростью, необходимой для потока вещества, подлежащего капсулированию, несущей жидкости и полимерного раствора.

Расход несущей жидкости /также как и ее вязкость/ обуславливает размер сегментов вещества, подлежащего капсулированию.

ванию; для данной скорости расходанесущей жидкости, скорость расхода вещества, подлежащего капсулированию, обуславливает промежутки, существующие ме^жду двумя сегментами вещества, подлежащего капсулированию; при большей скорости потока меньший промежуток образуется между двумя сегментами.

Затем регулируется питающий поток полимерного раствора в сопло 6 для получения образования капли полимерного раствора для каждого сегмента вещества, подлежащего капсулированию.

Как показано на Фиг. 3, когда синхронизация между потоком вещества, подлежащего капсулированию, и полимерным раствором получена, полимерный раствор, благодаря заостренной стенке 18 на конце трубки 1, экструдируется в форме капли, которая падает внутри суженного канала 9 /Фиг. 4/, после чего труда поступает вещество, подлежащее капсулированию. Длина канала 9 подбирается таким образом, чтобы по^учить удлинение капли.

Вытянутая форма капли благоприятна для достижения последовательно капель вращения в вытянутой форме /Фиг. 5/ когда, выходя из канала 9, она поступает в трубку 10 с большим поперечным сечением.

Во время продвижения капли и вещества, подлежащего капсулированию, по трубке 10, средство, которое они имеют друг к другу, способствует удалению жидкого носителя, что приводит к обволакиванию вещества, которое подлежит капсулированию, полимерным раствором.

Для облегчения этого покрытия, можно регулировать поток полимерного раствора таким образом, чтобы образующаяся капля полимерного раствора отделялась от стенки 18 в тот же момент, когда сегмент вещества, подлежащего капсулированию, достигает конца трубки 1 /как показано на Фиг. 3/; это позволяет получить немедленный контакт вещества, подлежащего капсулированию, с полимерным раствором, что в дальнейшем ускоряет процесс покрытия оболочкой.

В соответствии с отличительной чертой данного изобретения, образованная капсула в дальнейшем охлаждается в процессе прохождения ею трубки 10 посредством охлаждающего устройства, образованного по существу двойной стенкой 12, внутри которой циркулирует охлаждающая жидкость такая, как этиленгликоль. Охлаждающая жидкость циркулирует в направлении, противоположном движению образованных капсул.

Понижение температуры защищает вещество, подлежащее капсулированию, от возможных неблагоприятных воздействий растворителя, находящегося в полимерном растворе; это также способствует поступлению образованных капсул в осадитель, находящийся в емкости 11, без деформирования.

Целесообразно проводить охлаждение до тех пор, пока температура не достигнет значения более низкого, чем температура гелеобразования полимерного раствора; таким образом оболочка, покрывающая вещество, подлежащее капсулированию, переходит из состояния растворенного вещества в состояние термообратимого геля.

Это прохождение через стадию термообратимого геля позволяет после стадии замены растворителя на осадитель, находящийся в емкости 11, получить необратимый гель с однородной структурой и идеально гладкой поверхностью, чья структура не имеет никаких шероховатостей.

Раствор в емкости 11 целесообразно хранить при температуре, более низкой, чем температура окружающей среды с тем, чтобы устранить любое неожиданное повышение температуры капсул, которое привело бы к переходу из состояния термообратимой оболочки в состояние растворенного вещества, а также компенсировать возможную тенденцию обмена растворитель/осадитель.

После операции замены растворитель/осадитель получают капсулы, чья оболочка образована нетермообративным гелем. Эти капсулы промывают и затем хранят в подходящей среде до применения их по назначению.

В качестве альтернативы, можно получать макрокапсулы в форме пористого волокна, чьи стенки образованы гидрогелем акрилонитрила и метилсульфоната натрия.

Эти макрокапсулы получают соэкструдией вещества, подлежащего капсулированию, и полимерного раствора, содержащего сополимер акрилонитрила и метилсульфоната натрия, хлорида натрия и диметилсульфоксида, за которой следует стадия коагуляции в осаждающей емкости при температуре окружающей среды. Образующиеся волокна имеют толщину стенки 100 $\mu\text{м}$ и внутренний диаметр 450 $\mu\text{м}$.

Пример 1

Решено капсулировать QIN—клетки в виде суспензии в водном растворе с 0,9% хлористого натрия и 1% альбумина. RIN—клетки являются опухолевыми клетками мыши, способными вырабатывать инсулин при стимулировании их агринином.

В используемом устройстве для капсулирования капиллярные трубки 1 и 4 представляют собой трубки, изготовленные из политетрафторэтилена с поперечным сечением в виде окружности с внутренним диаметром 0,7 мм и наружным диаметром 1,1 мм. Суженный канал 9 имеет длину 3 мм и внутренний диаметр 0,9 мм. Охлаждающая трубка 10 состоит из трубки длиной 35 см с внутренним диаметром 1,1 мм и наружным диаметром 1,7 мм.

Для получения точного регулирования скорости истечения полимерного раствора посредством изменения давления воздуха в емкости 8, трубка 7 для подачи полимерного раствора подбирается таким образом, чтобы ее диаметр составлял менее 5 мм. Открытый угол конического сопла 6 составляет приблизительно 45° и расстояние между заостренным концом стенки 18 и соплом составляет приблизительно 0,2 мм.

Использованная несущая жидкость представляет собой смесь, состоящую из:

— 78% силиконового масла с концентрацией 170 ppm гидроксильных групп с вязкостью, равной 3cpз;

— 17% силиконового масла с концентрацией 1010 ppm гидроксильных групп с вязкостью, равной 3500 спз;

— 5% гексадекана.

Полученная смесь содержит 306 ppm гидроксильных групп и имеет вязкость 27 спз; ее нагнетают по трубке 4 со скоростью 0,30 мл/мин.

Полимерный раствор состоит из:

— 6% сополимера акрилонитрила и натрия метилсульфоната;

— 3% водного раствора хлорида натрия с концентрацией 9 г/л

— 91% диметилсульфоксида.

Температуру гелеобразования этого раствора поддерживают на уровне приблизительно 9°C.

Скорость подачи полимерного раствора в сопло 6 составляет 0,07 мл/мин.

Вещество, подлежащее капсулированию, представляет собой суспензию RIN—клеток в солевом растворе с концентрацией, равной приблизительно 10^6 клеток/мл, которая движется в трубке 1 со скоростью 0,01 мл/мин. Емкости 2, 5 и 8 находятся при комнатной температуре.

Созкструзию проводят при температуре 24°C. Охлаждение трубки 10 осуществляют посредством циркулирования противотоком в пространстве между двойной стенкой 12 смеси этиленгликоль/вода в соотношении 40/60 с температурой на выходе из охлаждающего устройства 13, равной 1°C.

Раствор емкости 11 включает нижнюю фазу, состоящую из водного раствора хлорида натрия с концентрацией 9 г/л, и верхнюю фазу меньшего объема, которая представляет собой смесь, состоящую из 70% об. этанола, 4% бутанола, 1% изопропанола, 25% воды, к которой добавлено несколько капель метиленового синего. Раствор находится при температуре окружающей среды.

Поверхность раздела между двумя фазами имеет спиртовой концентрационный градиент, что ускоряет пенетрацию без деформации капсул.

Полученные капсулы имеют идеальную сферическую форму с внешним диаметром, составляющим приблизительно от 800 $\mu\text{м}$ до 900 $\mu\text{м}$. Оболочка капсул является прозрачной и имеет постоянную толщину, равную 100 $\mu\text{м}$. Она образована гидрогелем, содержащим 86% воды и 14% сополимера акрилонитрила и метилсульфоната натрия.

После промывки в водном растворе хлорида натрия с концентрацией 9 г/л капсулы помещают в RPMI культур, содержащую 10% сыворотку плода коровы.

В конце 19 дней наблюдение посредством микроскопа показало увеличение количества RIN-клеток внутри капсулы.

Опыт стимулирования аргинином демонстрирует функциональность капсулированных клеток. Фактически, от 15 до 27 капсул помещают в ячейку. Среду культуры заменяют раствором Кребса. Первые данные получают для определения базального количества инсулина.

Затем этот раствор замещают "стимулирующим" раствором Кребса, содержащим аргинин и теофиллин. Эксперимент проводят в 10 ячейках. Полученная доза инсулина для каждой ячейки показана на Фиг. 6 и демонстрирует выделение инсулина при стимулировании капсул.

Отсюда можно заключить, что RIN-клетки сохраняют жизнеспособность и функциональность внутри капсулы, оболочка которой проницаема для питательных веществ, для аргинина и инсулина.

Пример 2

В этом случае вещество, подлежащее капсулированию, состоит из раствора инсулина с концентрацией 40 Ул/мл. Устройство для капсулирования, состав полимерного раствора, раствор замены растворитель/осадитель, а также температуры проведения процесса аналогичны используемым в примере 1.

Несущая жидкость в данном примере представляет собой смесь, состоящую из:

- 17% силиконового масла с концентрацией гидроксильных групп, равной 2,500 ррт, и вязкостью 750 спз;
- 83% силиконового масла с концентрацией гидроксильных групп, равной 170 ррт, и вязкостью 3 спз.

Полученная смесь содержит приблизительно 570 ррт гидроксильных групп и имеет вязкость 13,4 спз.

Скорости нагнетания растворов составляют:

- раствор инсулина: 0,008 мл/мин
- масло: 0,47 мл/мин
- полимерный раствор: 0,06 мл/мин.

Полученные капсулы имеют идеальную сферическую форму и с внешним диаметром, равным приблизительно от 800 $\mu\text{м}$ до 900 $\mu\text{м}$, и прозрачной оболочкой, которая имеет постоянную толщину, приблизительно равную 100 $\mu\text{м}$.

Пример 3

Вещество, которое подлежит капсулированию, в этом случае представляет собой суспензию островков Лангерганса в водном растворе хлорида натрия с концентрацией 9 г/л.

Состав полимерного раствора, несущей жидкости и жидкости для замены растворитель/осадитель аналогичны используемым в примере 2.

Скорости нагнетания составляют:

- суспензия островков: 0,019 мл/мин
- масло: 0,366 мл/мин
- полимерный раствор: 0,053 мл/мин

Созэкструзию островков и полимерного раствора проводят при температуре окружающей среды.

Температура охлаждающей жидкости на выходе из охлаждающего устройства 13 составляет -6°C . Раствор для замены растворитель/осадитель имеет температуру, изменяющуюся от 5°C до 15°C .

Полученные капсулы представляют собой идеальные сферы, содержащие центральную часть, состоящую из островков Лангерганса в виде суспензии в растворе соли, окруженную прозрачной оболочкой, образованной гидрогелем акрилонитрила и натрий метилсульфоната. Внешний диаметр капсул со-

ставляет приблизительно от 800 $\mu\text{м}$ до 900 $\mu\text{м}$; толщина капсулы составляет приблизительно 100 $\mu\text{м}$.

Капсулы хранят в среде RPMI культуры, содержащей 10%—ную сыворотку плода коровы.

Пример 4

В этом примере капсулируют бактерии в виде суспензии в среде культуры Tgucase — Soja (TC).

Условия капсулирования аналогичны условиям примера 1, за исключением того, что скорости подачи составляют:

- для суспензии бактерий: 0,0145 мл/мин
- для масла: 0,47 мл/мин
- для полимерного раствора: 0,06 мл/мин

Полученные капсулы представляют собой сферы, которые образованы оболочкой, окружающей центральную часть, диаметром 650 $\mu\text{м}$, состоящую из суспензии бактерий. Они культивированы в среде TC культуры при температуре 37 °C.

Наблюдение капсул после 24 часов, а затем после 8 дней в среде культуры показывает увеличение количества бактерий без разрыва оболочки.

Пример 5

В соответствии со способом, описанным в примере 1, получают микрокапсулы, наполненные физиологической жидкостью для излучения их биосовместимости в отношении места имплантации.

После этого капсулы имплантируют крысе в подкожную ткань. После трех недель наблюдают, что капсулы сра-

стаются и образуют органоидную структуру, которая может быть энуклеирована. Исследование реакции ткани, окружающей капсулы, показывает значительное уменьшение толщины клеточного слоя, наблюдаемого после двух месяцев, по сравнению с тем, который наблюдается после трех месяцев, что является следствием исчезновения слоя макрофагов, который прилегает к капсуле, и регресс соединительной ткани, вновь образованной в процессе воспалительной реакции.

Более того, свободные места между капсулами после двух месяцев пересекаются капиллярной системой, что является благоприятным для обменов. Наблюдение после шести месяцев показало, что толщина фиброз идентична той, которая наблюдалась после двух месяцев.

Капсулы имплантируют также в брюшинную полость крыс, что приводит к реакции, аналогичной той, что наблюдалась в подкожной ткани.

Пример 6

Получают полые волокна, которые заполняют островками Лангерганса соэкструдией суспензии островков и полимерного раствора, состоящего из:

- 10% сополимера акрилонитрила и метилметилсульфоната натрия,
- 5% водного раствора хлорида натрия в концентрации 9 г/л,
- 85% диметилсульфоксида.

Созэкстудию осуществляют посредством стальной матрицы, состоящей из внутренней трубки с диаметром, приблизительно равным 330 $\mu\text{м}$, которая окружена внешней кольцевой трубкой с диаметром 845 $\mu\text{м}$, при этом толщина стенки между двумя трубками составляет 130 $\mu\text{м}$.

Скорость экструдии суспензии островков составляет 0,16 мл/мин, скорость экструдии полимерного раствора составляет 3 мл/мин.

Матрицу помещают приблизительно на 20 см выше сосуда с осаждающей жидкостью, состоящей из водного раствора хлорида натрия с концентрацией 9 г/л при комнатной температуре.

На выходе из матрицы экструдированное волокно падает в сосуд для осаждения, где оно коагулирует. Стенка волокна образована гидрогелем, состоящим из 80% воды и 20% сополимера акрилонитрила и метилметакрилатсульфоната натрия.

Пример 7

Волокна, полученные в соответствии с примером 6, имплантируют в подкожную ткань и в брюшинную полость крыс. Реакция ткани, которая наблюдалась, сравнима с реакцией, которая описана в примере 5, и она стабильна после двух месяцев имплантации.

Кроме того, волокна, эксплантированные из брюшинной полости спустя три недели после имплантации, культивируют и затем стимулируют.

Некоторые из испытанных волокон показали способность реагировать на стимулирующий раствор глюкозы увеличением выделения инсулина.

Таким образом, можно сделать вывод, что островки Лангерганса сохраняют жизнеспособность и функциональность внутри волокна, покрытого оболочкой, проницаемой для питательных веществ, инсулина и глюкозы.

По доверенности

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Имплантируемая капсула, отличающаяся тем, что включает:

- внешнюю оболочку, образованную гидрогелем акрилонитрила и метилсульфоната натрия,
- внутреннее ядро, образованное капсулируемым веществом.

2. Имплантируемая капсула по пункту 1, отличающаяся тем, что имеет сферическую форму с диаметром, по существу заключенным в пределах от 800 $\mu\text{м}$ до 900 $\mu\text{м}$, и тем, что оболочка имеет постоянную толщину, по существу равную 100 $\mu\text{м}$.

3. Имплантируемая капсула по одному из пунктов 1 или 2, отличающаяся тем, что ядро включает вещество, выбранное из островков Лангерганса или панкреатических β -клеток.

4. Имплантируемая капсула по пункту 3, отличающаяся тем, что оболочка капсулы является проницаемой для инсулина и для питательных веществ, необходимых для вещества, подлежащего капсулированию.

5. Имплантируемая капсула по одному из пунктов 1 или 2, отличающаяся тем, что ядро включает гепатоциты.

6. Имплантируемая капсула по одному из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что оболочка содержит по меньшей мере 80% воды.

По доверенности

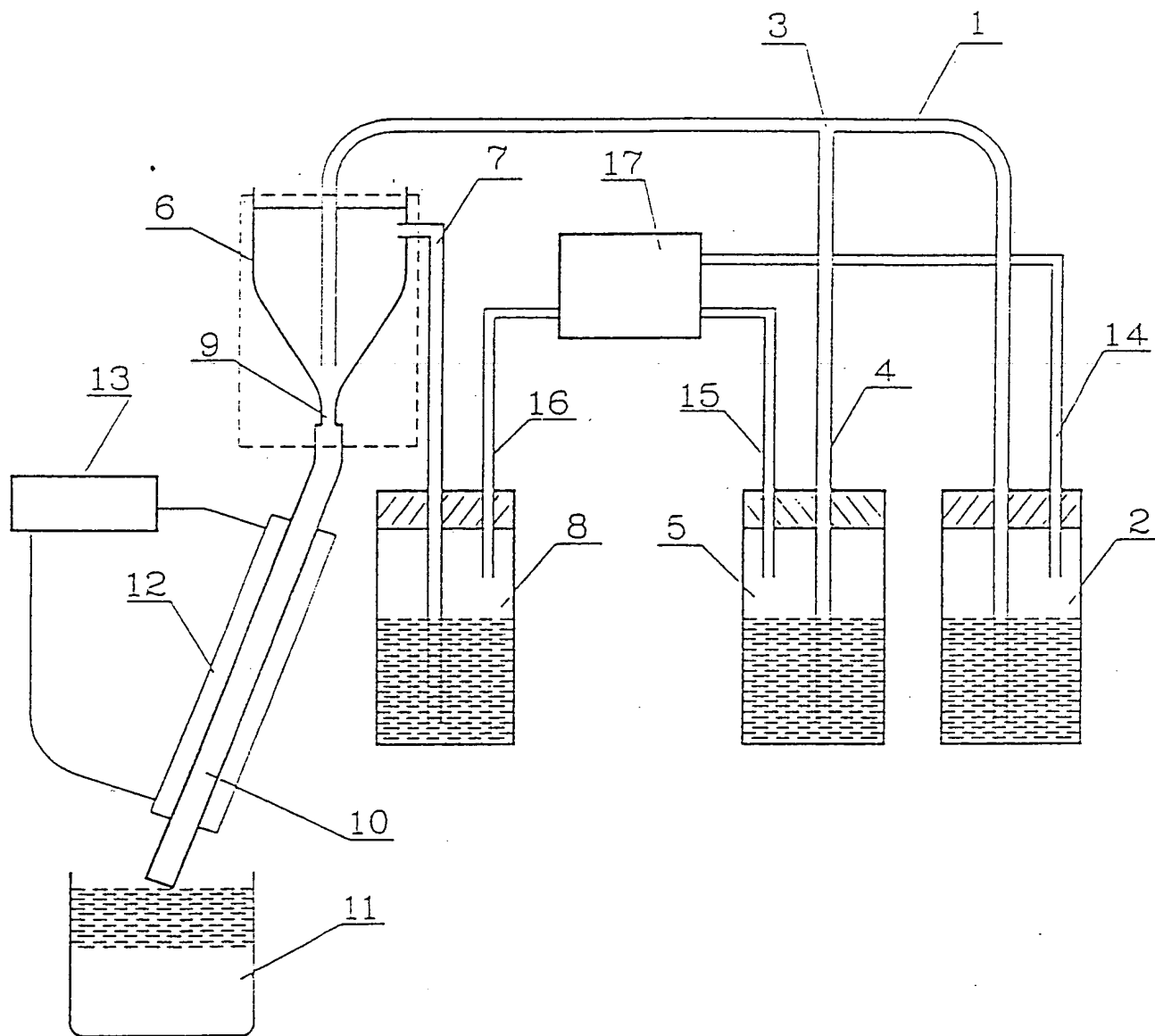


Figure 1

Figure 2

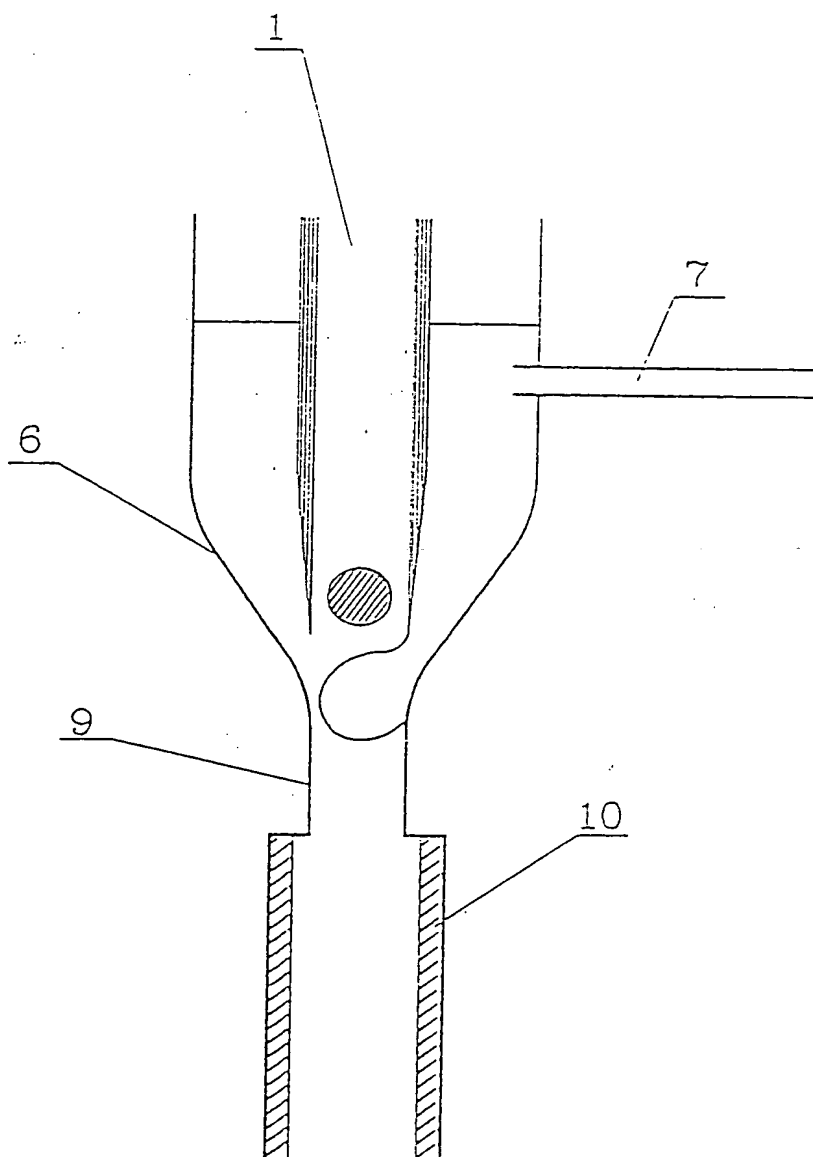


Figure 3

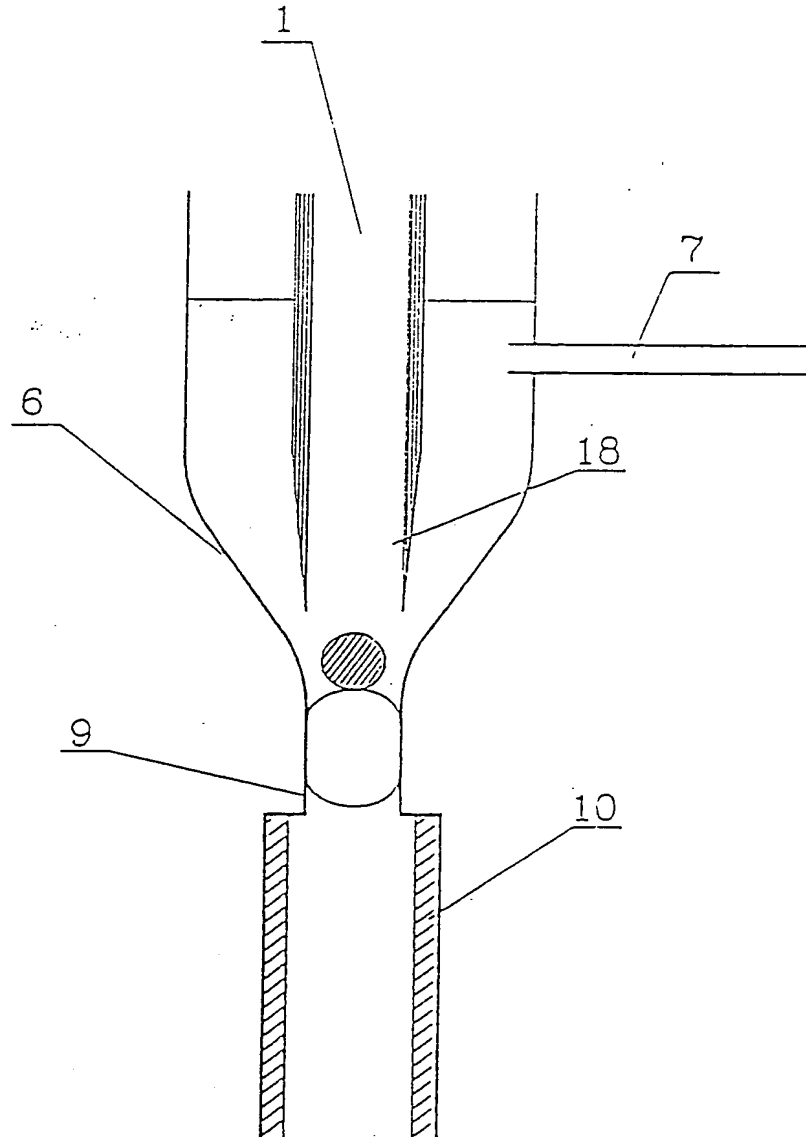


Figure 4

5/6

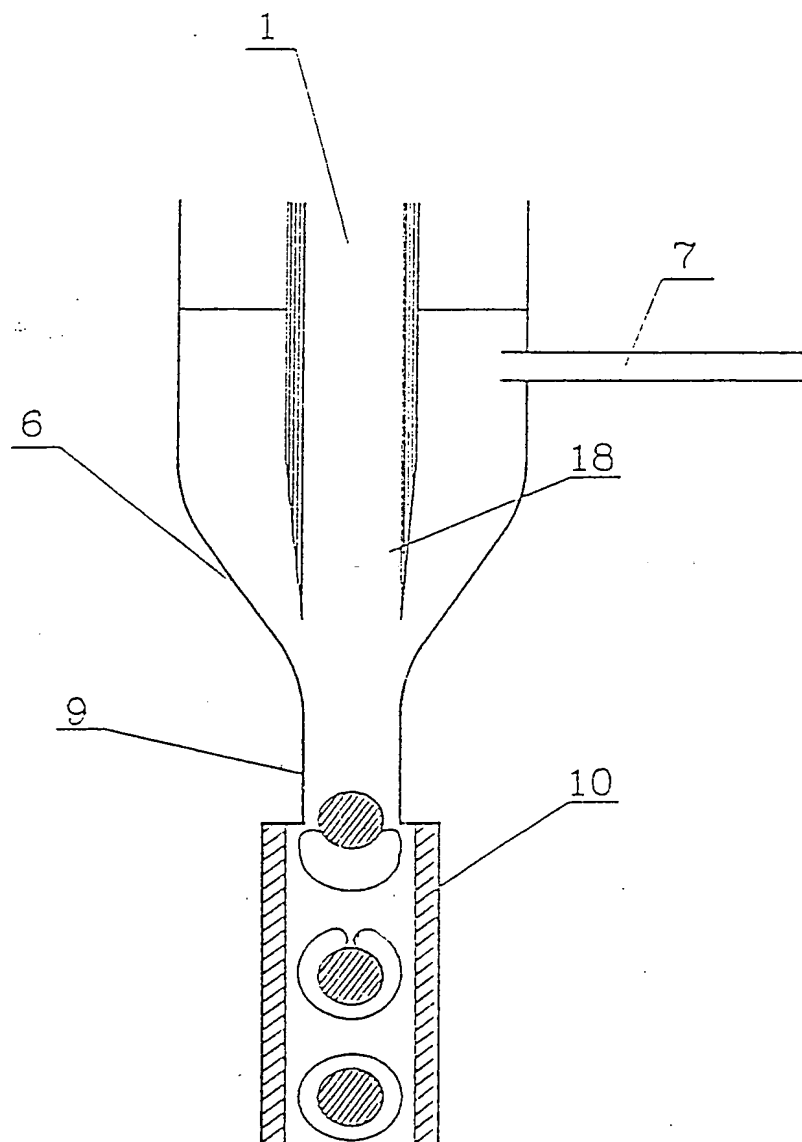


Figure 5

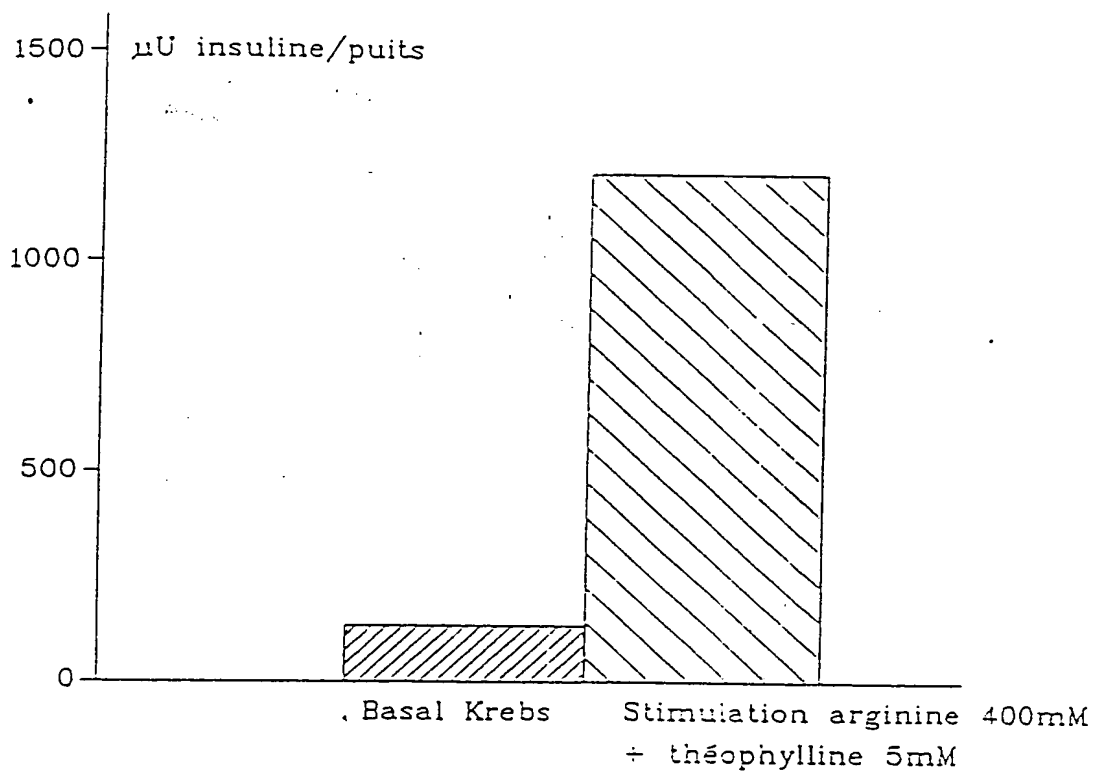


Figure 6